

На правах рукописи

БУЛАТОВА ИРИНА АНАТОЛЬЕВНА

**ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЭНДОТЕЛИЯ И ЕГО
ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ПРИ ОЦЕНКЕ ТЯЖЕСТИ
ХРОНИЧЕСКИХ ДИФФУЗНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЕЧЕНИ**

14.00.05. – внутренние болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Екатеринбург - 2009

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Пермская государственная медицинская академия имени академика Е.А. Вагнера Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» на базе клинической медико-санитарной части г. Перми и Пермского Краевого гепатологического центра

Научный руководитель

кандидат медицинских наук, доцент **Щекотова Алевтина Павловна**

Официальные оппоненты

доктор медицинских наук, профессор **Владимирский Евгений Владимирович**

доктор медицинских наук, профессор **Шардин Stanisлав Андреевич**

Ведущая организация

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Ижевская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию».

Защита диссертации состоится « 2 » июня 2009 г. в « » часов на заседании совета по защите докторских диссертаций Д 208.102.02, созданного при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, д. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО УГМА Росздрава, по адресу: 620028 г. Екатеринбург, ул. Ключевская, д. 5а, а с авторефератом на сайте академии www.usma.ru

Автореферат разослан « » 2009 года.

Ученый секретарь совета
по защите докторских диссертаций

доктор медицинских наук, профессор

Гришина И.Ф.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Хронические диффузные заболевания печени (ХДЗП), связанные с гепатотропными вирусами, являются важнейшей проблемой здравоохранения в связи с их широкой распространенностью (от 3 до 15 на 1000 обследованных), неуклонным ростом заболеваемости, инвалидизации и смертности. В индустриально развитых странах вирус гепатита С (HCV) является причиной развития у 70% больных хронических гепатитов, доля больных на стадии цирроза печени (ЦП) среди всех инфицированных HCV составляет по разным данным от 20 до 40%. Значительно возросла частота HCV-ассоциированной гепатоцеллюлярной карциномы (Онищенко Г.Г., 2003; Шахильдян И.В., 2003). В связи с этим, более глубокое изучение механизмов патогенеза, своевременная диагностика и рациональная терапия HCV-инфекции – важнейшее условие увеличения продолжительности жизни больных, снижения количества осложнений, профилактики прогрессирования в ЦП и формирования гепатоцеллюлярной карциномы.

В патогенезе хронических вирусных гепатитов и прогрессировании их в ЦП, помимо прямого цитопатического действия вируса с включением иммуноопосредованных механизмов, большое значение имеет нарушение внутripеченочной гемодинамики, что может быть связано с повреждением эндотелиальной выстилки печеночных синусоидов и дисфункцией эндотелия (ДЭ). Среди исследователей мировой науки сегодня особенно остро стоит вопрос изучения сосудистого эндотелия и его дисфункции в связи с полученными данными о его участии во многих физиологических и патофизиологических процессах в организме. На сегодняшний день патогенетическая роль ДЭ общепризнанна и считается важным аспектом не только патогенеза, но и клиники сердечно-сосудистых заболеваний, сахарного диабета, бронхиальной астмы, онкологических заболеваний, интоксикаций, инфекций (Гомазков О.А., 2001; Коломоец Н.М., 2001; Малая Л.Т., 2000;

Яковлев В.М., 2000). Стенки печеночных гемокапилляров (синусоиды) выстланы эндотелиальными клетками, и вместе с обращенными в просвет участками гепатоцитов, образуют функциональную и гистологическую единицу. Между клетками синусоидов и гепатоцитами происходят сложные взаимодействия. Процессы ангиогенеза в печени также тесно связаны с функциональной состоятельностью эндотелия (Звягинцева Т.Д., 2005; Петрищев Н.Н., 2003; Шерлок Ш., 2002). При заболеваниях печени происходит повреждение эндотелиальных клеток печеночных синусоидов, увеличение продукции цитокинов, свободных радикалов и коллагена, вследствие чего происходит изменение фенестрированности синусоидов, коллагенизация пространства Диссе и нарастание внутripеченочного сосудистого сопротивления, что приводит к значительным нарушениям печеночного кровообращения, развитию ишемии и некроза печеночной ткани с последующим фиброзированием печени (Звягинцева Т.Д., 2005; Петрищев Н.Н., 2003; Ермолов С.Ю., 2000). Однако функциональное состояние эндотелия печеночных гемокапилляров, механизмы и роль ДЭ в патогенезе ХДЗП еще недостаточно изучены.

Актуальным также является разработка биохимических маркеров морфологических проявлений вирусного поражения печени, разработка и внедрение в клиническую практику адекватных методов оценки функционального состояния эндотелия и способов коррекции эндотелиальных нарушений (Andersson T. I., 1999). Так как в широком смысле ДЭ может быть определена, как неадекватное образование в эндотелии разных биологически активных веществ, то важным методом оценки наличия и степени выраженности эндотелиальных нарушений является определение в крови этих веществ (Петрищев Н.Н., 2001, 2003; Meigs J.B., 2004). К таким факторам можно отнести маркеры повреждения эндотелия – десквамированные эндотелиоциты (ДЭЦ), васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF) и фактор Виллебранда (vWF), к маркерам дисфункции эндотелия относят оксид азота

(NO) и эндотелин-1 (Et-1) (Петрищев Н.Н., 2003; Звягинцева Т.Д., 2005). Увеличение количества ДЭЦ, как маркера повреждения эндотелия, выявляется при многих патологических состояниях (Петрищев Н.Н., 2001). Оксид азота и печень тесно связаны друг с другом: эта активная молекула вырабатывается гепатоцитами и клетками ретикулоэндотелиальной системы печени (Лазебник Л.Б., 2005). Исследование NO в крови при острых процессах в печени выявило активизацию его выработки, при хронических заболеваниях печени возникает угнетение процессов биосинтеза NO. Недостаток NO в тканях приводит к образованию язв в желудке, гастритов, ЦП (Helmy A., 2003). Однако на сегодняшний день остается противоречивость трактовки значения данного мессенджера в патогенезе заболеваний печени. Антагонистом NO по влиянию на тонус сосудов является Et-1, который рассматривается сегодня как маркер различной сосудистой патологии (Гомазков О.А., 2000). Максимальное количество Et-1 вырабатывается при эндотоксинемии, гипоксии, ишемии, при трансплантации органов, опухолях (Петрищев Н.Н., 2003; Звягинцева Т.Д., 2005). В последнее время показателем повреждения эндотелия считают vWF. Многочисленными исследованиями установлено закономерное нарастание уровня vWF в плазме крови при значительных сосудистых поражениях (Петрищев Н.Н., 2003; Долгов В.В., 2005; Лупинская З.А., 2003; Vazo J.G., 2004).

Указанные предпосылки определили направление данного исследования.

Цель исследования

Оценить функциональное состояние эндотелия при хроническом гепатите и циррозе печени и охарактеризовать диагностическое значение эндотелиальной дисфункции в оценке тяжести хронических диффузных заболеваний печени.

Задачи исследования

1. Изучить состояние эндотелия при хронических диффузных заболеваниях печени.
2. Охарактеризовать зависимость степени выраженности эндотелиальных нарушений от тяжести поражения печени.
3. Провести оценку диагностического значения эндотелиальной дисфункции при хроническом гепатите и циррозе печени.
4. Оценить динамику показателей функционального состояния эндотелия у больных хроническим гепатитом С в процессе комбинированной противовирусной терапии.

Научная новизна

Впервые комплексно изучено функциональное состояние эндотелия при патологии печени и оценена зависимость степени выраженности эндотелиальных нарушений от тяжести поражения печени. При этом установлено, что при ХДЗП имеются признаки повреждения и дисфункции эндотелия, более выраженные при циррозе печени.

Впервые установлено, что методы оценки функционального состояния эндотелия обладают высокой диагностической чувствительностью, специфичностью и эффективностью, и позволяют выявлять дисфункцию эндотелия у больных ХДЗП, а также дифференцировать степень выраженности эндотелиальных нарушений при хроническом гепатите и циррозе печени.

Впервые установлено, что использование у больных хроническим гепатитом С комбинированной противовирусной терапии реафероном в сочетании с рибавирином сопровождается уменьшением эндотелиальных нарушений.

Практическая ценность работы

Предложен комплекс методов оценки функционального состояния эндотелия при ХДЗП и определения степени выраженности эндотелиальных

нарушений при хроническом гепатите (ХГ) и ЦП. Выявленные изменения показателей функционального состояния эндотелия, значимость его роли в патогенезе ХДЗП, а также высокие операционные характеристики методов оценки функционального состояния эндотелия, позволили обосновать возможность их включения в программу обследования больных ХГ и ЦП.

Результаты исследования позволили выявить положительную динамику показателей функционального состояния эндотелия при ХГС на фоне комбинированной противовирусной терапии реафероном в сочетании с рибавирином, что подтверждает обоснованность данной терапии при этой патологии печени.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Синдром повреждения и дисфункции эндотелия является значимой характеристикой при ХДЗП.

2. Степень выраженности нарушений функционального состояния эндотелия существенно больше у больных ЦП в сравнении с ХГ. При ЦП степень повреждения и дисфункции эндотелия определяется выраженностью синдромов цитолиза, холестаза, печеночно-клеточной недостаточности и мезенхимального воспаления. При ХГ степень повреждения эндотелия определяется выраженностью синдрома холестаза.

3. Методы комплексной оценки функционального состояния эндотелия, обладают высокой диагностической чувствительностью, специфичностью и эффективностью и позволяют дифференцировать степень тяжести эндотелиальных нарушений при хроническом гепатите и циррозе печени.

4. Противовирусная терапия при ХГС сопровождается значительным улучшением параметров функционального состояния эндотелия.

Апробация работы

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на научной сессии «Терапия и кардиология» (Пермь, 2006), на конференции Пермского краевого отделения Ассоциации медицинской лабораторной диагностики (Пермь, 2008), на научной сессии молодых ученых «Актуальные вопросы клинической медицины» (Пермь, 2008), на научной сессии ПГМА (Пермь, 2009).

По результатам работы опубликовано 10 печатных работ, из них 4 в рекомендованных ВАК изданиях.

Внедрение в практику

Результаты работы используются в учебном процессе на кафедре госпитальной терапии № 2 с курсом ВПТ и на курсе клинической лабораторной диагностики при кафедре терапии и семейной медицины ФПК и ППС ГОУ ВПО «ПГМА им. ак. Е.А. Вагнера Росздрава».

Начиная с осени 2008 года, предложенный тест оценки количества ДЭЦ используется в КМСЧ № 1 и в НУЗ ОКБ на ст. Пермь-2 ОАО «РЖД» г. Перми.

Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 2 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 67 отечественных и 104 зарубежных источников. Работа изложена на 122 страницах стандартного компьютерного текста, содержит 21 таблицу и 38 рисунков. Весь материал, представленный в диссертации, получен, обработан и проанализирован лично автором.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Настоящее исследование проведено на базе клинической МСЧ № 1 г. Перми и Пермского Краевого гепатологического центра с 2004 по 2008 г., является открытым нерандомизированным. Обследовано 78 больных ХДЗП преимущественно вирусной этиологии. Критерии включения: ХДЗП вирусной этиологии, мужской и женский пол, возраст старше 20 лет, информированное добровольное согласие пациентов. Критерии исключения - патологические состояния, сопровождающиеся ДЭ: сердечно - сосудистые заболевания (ИБС, артериальная гипертензия, аритмии, инсульты в анамнезе), сахарный диабет, бронхиальная астма, онкологические заболевания, беременность.

На первом этапе обследовано 78 больных ХДЗП (средний возраст – 44 года; мужчин – 45 человек, женщин – 33), из которых у 50 больных имелся ХГС в фазе реактивации, у 28 пациентов – ЦП преимущественно вирусной этиологии: у 75 % больных (21 человек) – ЦП в исходе ХГС, у 7,1 % (2 человека) – в исходе ХГВ, 7,1 % (2 пациента) имели сочетание ХГС и ХГВ, 10,8 % пациентов (3 человека) имели смешанный генез ЦП (сочетание вирусного, вызванного HCV, и алкогольного ЦП). В группе с ХГС по полу пациенты распределились следующим образом: мужчин – 29 (58%), женщин – 21 (42%). Средний возраст больных составил $35,6 \pm 10,7$ лет. В группе с ЦП распределение пациентов по полу составило: мужчин – 16 (57%), женщин – 12 (43%). Средний возраст больных составил $54,5 \pm 11,7$ лет. Контрольная группа состояла из 26 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту, не имеющих в анамнезе заболеваний печени.

Второй этап работы - оценка динамики показателей повреждения и ДЭ у больных ХГС на фоне комбинированной противовирусной терапии (ПВТ) реафероном в сочетании с рибавирином. Для реализации цели 2-го этапа в

группе больных ХГС были выделены 2 подгруппы, сопоставимые по полу и возрасту: основная группа в составе 10 больных и группа сравнения из 11 пациентов. Критерии включения в основную группу – фаза реактивации заболевания, репликация HCV – РНК (по ПЦР), приверженность и информированное согласие пациента на лечение. Пациентам с ХГС основной группы наблюдения проводилась комбинированная противовирусная терапия препаратом «Реаферон» (фирма «Вектор») в дозе 3 млн. МЕ в сутки через день в сочетании с препаратом «Рибавирин» в дозе 800-1200 мг/кг в сутки. Длительность лечения составила 24-48 недель. Пациенты группы сравнения получали дезинтоксикационную терапию в виде внутривенных вливаний 5% глюкозы с добавлением аскорбиновой кислоты. Ряд больных по показаниям получали симптоматическую терапию в виде ферментных препаратов (мезим) и спазмолитиков (папаверин). Длительность лечения составляла 2-4 недели. Оценка показателей функционального состояния эндотелия в динамике в группах наблюдения проводилась через 1 месяц после начала лечения.

Методы, использованные в работе:

1. Анализ первичной медицинской документации.
2. Клинические методы (сбор анамнеза, физикальное обследование).
3. Инструментальные методы: УЗИ, сцинтиграфия печени.
4. Лабораторное исследование (общий анализ крови, биохимические исследования крови, определение серологических маркеров вирусных гепатитов – HBsAg и анти - HCV JgG и JgM; ПЦР – индикация HCV – РНК и определение генотипа HCV).
5. Исследование агрегационной способности тромбоцитов на агрегометре с агонистами – ристоцетином, аденозиндифосфатом (АДФ) и коллагеном.
6. **Тесты оценки функционального состояния эндотелия:**
 - подсчет количества десквамированных эндотелиоцитов в плазме крови по методу Hladovec, 1978г. (Н.Н. Петрищев, 2001г.);

- количественное определение васкулоэндотелиального фактора роста в плазме крови иммуноферментным методом на аппарате StatFax с использованием набора BIOSOURCE (США).
- количественное определение функциональной активности фактора Виллебранда на агрегометре 230 LA НПФ Биола (г. Москва) с использованием набора для количественного определения vWF фирмы НПО «Ренам» (г. Москва);
- определение уровня общего оксида азота в плазме крови иммуноферментным методом на аппарате StatFax с использованием набора SYSTEMS (США);
- определение уровня эндотелина-1 в плазме крови иммуноферментным методом на аппарате StatFax с использованием набора BIOMEDICA CRUPPE (США).

Общее количество лабораторных исследований, сделанных нами в процессе работы составило более 2000 тестов.

Статистическая обработка материала. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программ STATISTICA 6,0 Microsoft и Office Excell 2003. Для описания полученных количественных признаков использовалось среднее арифметическое (M) \pm одно среднее квадратичное стандартное отклонение (σ). Для сравнения количественных признаков в двух группах статистический анализ результатов произведен с применением критерия Стьюдента. При оценке значимости различий показателей, полученных при динамическом наблюдении, использовался парный критерий Стьюдента. Нулевая гипотеза отвергалась, и различия между выборками считались статистически достоверными при значении для $p < 0,05$. Для корреляционного анализа применялся коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r). Проводилась оценка операционных характеристик тестов оценки функционального состояния эндотелия - диагностической чувствительности (ДЧ), диагностической специфичности (ДС) и

диагностической эффективности (ДЭ) (Меньшиков В.В., 1997г.). Распределение результатов исследований получали при помощи построения кумулятивных кривых и нахождении точки разделения между обследуемыми группами.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ клинического статуса больных ХГС и ЦП, данных физикального обследования, оценка лабораторных показателей, данных инструментальных методов исследования (УЗИ и сцинтиграфия печени) позволили определить ведущие синдромы (табл. 1, 2).

Таблица 1

Ведущие синдромы в группах больных ХГ и ЦП

Синдромы	ХГ	ЦП
Астенический	82%	100%
Диспепсический	60%	100%
Геморрагический	—	32%
Гепатомегалия	88%	70%
Спленомегалия	6%	67%
Гиперспленизм	—	76%
Цитолитический	78%	83%
Холестатический	19,6%	83%
Печеночно-клеточной недостаточности	19,6%	90%
Мезенхимально-воспалительный	74,5%	100%
Портальная гипертензия	—	100%
Тромбоцитопения	15%	40%

Основные биохимические показатели у больных ХГС и ЦП представлены в таблице 2.

Таблица 2

Сравнительный анализ биохимических показателей в группах больных
ХГС, ЦП и в группе практически здоровых лиц ($M \pm \sigma$)

Показатели	Контрольная группа	ХГС	ЦП	p_{1-2}	p_{1-3}	P_{2-3}
	1	2	3			
Общий белок, г/л	72,22±6,42	73,61±6,56	66,23±6,22	0,5	0,02*	0,005*
АЛТ, МЕ/л	24,2±7,9	76,54±54,7	82,8±53,5	0,001*	0,004*	0,1
АСТ, МЕ/л	23,53±7,2	60,57±38,6	89,4±55,1	0,001*	0,0001*	0,01*
ГГТП, МЕ/л	22±5,74	49,3±23,88	113,1±62,1	0,002*	0,0001*	0,06
ЩФ, МЕ/л	59,18±20,04	87,01±15,25	154,93±54,04	0,01*	0,0001*	0,01*
Билирубин общий, мкмоль/л	11,5±5,5	17,2±7	48,8±30,7	0,001*	0,01*	0,001*
Билирубин связанный, мкмоль/л	3,6±2,2	10,8±5,3	26,3±12,6	0,01*	0,01*	0,01*
Тимоловая проба, Ед	1,53±0,94	3,89±2,2	7,6±3,7	0,01*	0,001*	0,001*
ПТВ, сек	16,67±1,02	15,99±2,32	20,44±3,7	0,2	0,0001*	0,0001*

p – достоверность различий

* - различия достоверны

По результатам лабораторных тестов у больных ХГС увеличение аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) до 3 норм отмечалось у 40% больных, до 10 норм – у 30% пациентов, более чем в 10 норм – у 8% пациентов, у 22% больных активность ферментов не превышала нормальные значения.

Показатели функционального состояния эндотелия при ХДЗП значимо и достоверно отличались от аналогичных параметров у практически здоровых лиц (табл. 3).

Таблица 3

Сравнительный анализ показателей функционального состояния эндотелия у больных ХДЗП и в группе контроля ($M \pm \sigma$)

Показатели	Контрольная группа	ХДЗП	p
ДЭЦ, $10^4/\text{л}$	$3,02 \pm 1,21$	$7,01 \pm 2,58$	0,001*
VEGF, пг/мл	$158,86 \pm 72,83$	$285,82 \pm 115,07$	0,001*
vWF, %	$80,11 \pm 9,77$	$107,18 \pm 27,5$	0,01*
NO, мкмоль/л	$29,43 \pm 3,34$	$16,8 \pm 9,7$	0,001*
Et-1, фмоль/л	$0,3 \pm 0,13$	$0,74 \pm 0,38$	0,0001*

p – достоверность отличий в сравниваемых группах

* - различия достоверны

Увеличение количества ДЭЦ ($p=0,001$) и функциональной активности vWF ($p=0,01$) подтверждают наличие выраженного повреждения сосудистого эндотелия при ХДЗП. Уровень VEGF при ХДЗП был достоверно повышен ($p=0,001$), что может свидетельствовать о неоангиогенезе и сосудистой перестройке в печени на фоне повреждения эндотелия. Достоверное снижение уровня NO ($p=0,001$) свидетельствует о недостаточной базовой выработке NO в эндотелии, что в сочетании с повышением концентрации Et-1 ($p=0,0001$) указывает на дисбаланс соединений, влияющих на тонус сосудов.

Группы больных ХГ и ЦП не сопоставимы по возрасту. Для исключения возможного наличия у больных ХДЗП зависимости эндотелиальных

нарушений от возраста, в группах больных ХГ и ЦП был проведен корреляционный анализ возраста и показателей функционального состояния эндотелия, при котором достоверных взаимосвязей не найдено. При сравнительном анализе показателей функционального состояния эндотелия в группах больных ХГ и ЦП, не сопоставимых по возрасту, было выявлено, что у больных ЦП имеются более достоверно выраженные признаки повреждения эндотелия в сравнении с группой пациентов с ХГ: количество ДЭЦ в плазме крови было ($8,12 \pm 2,67 \cdot 10^4/\text{л}$ – при ЦП и $5,89 \pm 2,16 \cdot 10^4/\text{л}$ – при ХГС; $p=0,001$), уровень VEGF составил ($374,95 \pm 116,61 \text{ пг/мл}$ и $249,51 \pm 94,25 \text{ пг/мл}$ соответственно; $p=0,001$), функциональная активность vWF ($120,0 \pm 15,8\%$ и $102,1 \pm 14,7\%$ соответственно; $p=0,001$). Синдром ДЭ в группе больных ЦП также был более выраженным, чем у больных ХГ и характеризовался достоверно более низким уровнем NO ($13,1 \pm 4,5 \text{ мкмоль/л}$ и $18,6 \pm 9,03 \text{ мкмоль/л}$ соответственно; $p=0,01$) и достоверно высоким уровнем Et-1 в плазме крови больных ЦП ($0,79 \pm 0,24 \text{ фмоль/л}$ и $0,68 \pm 0,23 \text{ фмоль/л}$ соответственно; $p=0,001$) (рис. 1, 2, 3).

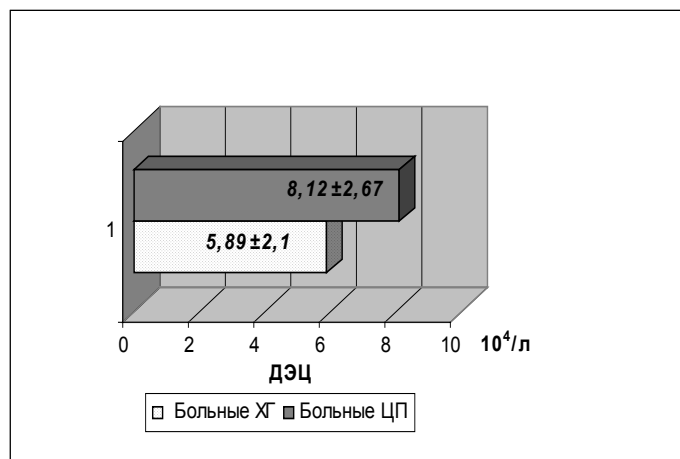


Рисунок 1. Сравнительный анализ количества ДЭЦ в группах больных ХГ и ЦП

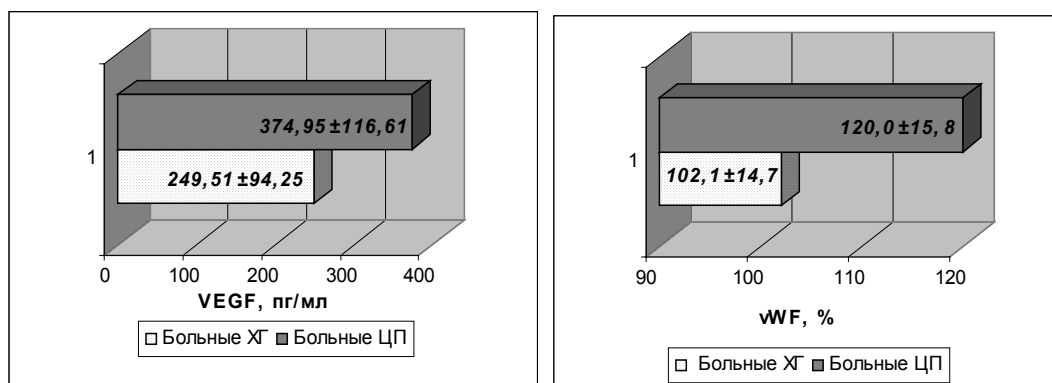


Рисунок 2. Сравнительный анализ количества ДЭЦ и функциональной активности vWF в группах больных ХГ и ЦП

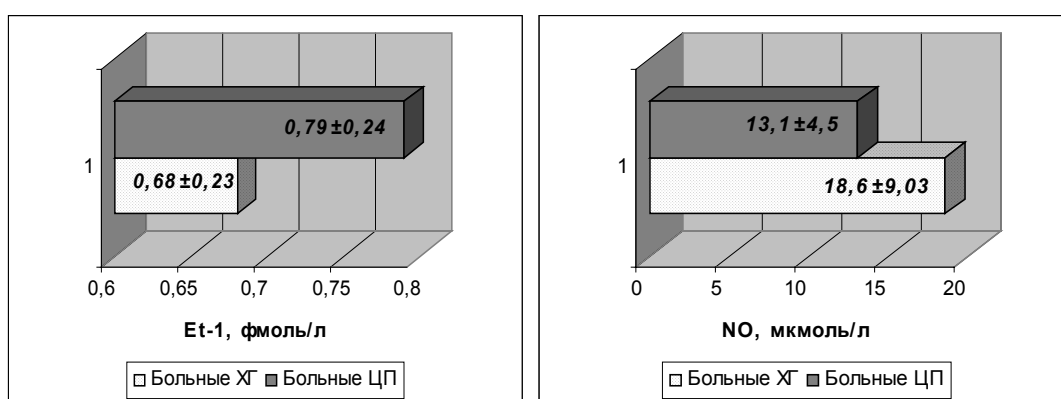


Рисунок 3. Сравнительный анализ уровня NO и Et-1 в группах больных ХГ и ЦП

Таким образом, при ХДЗП имеются признаки повреждения и дисфункции эндотелия, не зависящие от возраста больных и более выраженные при ЦП, подтверждающие по нашему мнению роль синдрома повреждения и ДЭ, как патогенетического механизма развития портальной гипертензии и дальнейшего прогрессирования патологического процесса.

Проведен сравнительный анализ показателей функционального состояния эндотелия у больных ХГС с разной выраженностью синдрома цитолиза (табл. 4). У больных ХГС с нормальными значениями АЛТ и АСТ и у пациентов с минимальным цитолизом (АЛТ и АСТ до 3 норм) достоверных отличий показателей функционального состояния эндотелия не обнаружено. В группе больных ХГС с умеренным цитолизом (АЛТ и АСТ до 10 норм)

имелись более выраженные эндотелиальные нарушения, достоверно и значимо отличающиеся от предыдущих двух групп.

Таблица 4

Сравнительный анализ показателей функционального состояния
эндотелия у больных ХГС с разной степенью выраженности синдрома
цитолита ($M \pm \sigma$)

Показатели	Без цитолита	Мини- мальный цитолит	Умеренный цитолит	p_{1-2}	p_{1-3}	p_{2-3}
	1	2	3			
АЛТ, МЕ/л	33,43± 5,69	53,81± 16,53	158,6±31,5	0,004*	0,001*	0,001*
АСТ, МЕ/л	31,26±5,6	56,61± 25,03	149,1± 29,11	0,005*	0,001*	0,001*
ДЭЦ, 10^4 /л	4,83±1,26	5,19±1,18	7,1±1,0	0,1	0,01*	0,01*
VEGF, пг/мл	186,67± 4,46	233,3± 61,95	320,46± 53,97	0,3	0,01*	0,1
vWF, %	89,0±5,24	90,28± 13,68	116,25± 10,7	0,3	0,01*	0,01*
NO, мкмоль/л	21,9±7,8	18,38±7,6	16,12±3,42	0,3	0,1	0,2
Et-1, фмоль/л	0,47±0,16	0,55±0,18	0,7±0,26	0,8	0,01*	0,01*

p – достоверность отличий в сравниваемых группах

* - различия достоверны

У больных ХГС активация патологического процесса, косвенно оцениваемая по уровню АЛТ и АСТ, сопровождается увеличением степени выраженности эндотелиальных нарушений, что весьма логично, так как ферментемия при ХГС обусловлена повреждением гепатоцитов под

воздействием вирусного агента в фазе реактивации заболевания, что приводит к снижению детоксикационной функции гепатоцитов и соответственно сопровождается ростом эндогенной интоксикации, роль которой в патогенезе ДЭ доказана многочисленными исследованиями. Также необходимо отметить тот факт, что колебания АЛТ в известной мере коррелируют с уровнем вирусемии (Соринсон С.Н., 1996). Поэтому, можно предположить наличие зависимости функционального состояния эндотелия от уровня вирусной нагрузки и роль HCV в патогенезе эндотелиальных нарушений при ХГ.

В настоящем исследовании в группах больных ХГ и ЦП выявлены достоверные корреляции показателей функционального состояния эндотелия между собой, что подтверждает наличие эндотелиальных нарушений при ХДЗП, так как усиление десквамации эндотелиоцитов сопровождается повышением уровня VEGF и функциональной активности vWF, снижением уровня NO и повышением концентрации Et-1 (табл. 5).

Таблица 5

Корреляционный анализ показателей функционального состояния
эндотелия в группах больных ХГ и ЦП

Показатели	ХГ		ЦП	
	r1	p1	r2	p2
ДЭЦ и VEGF	0,61	0,015*	0,86	0,0003*
ДЭЦ и vWF	0,55	0,014*	0,8	0,0004*
ДЭЦ и NO	- 0,57	0,003*	- 0,92	0,00001*
ДЭЦ и Et-1	0,76	0,00004*	0,85	0,0005*
VEGF и vWF	0,72	0,013*	0,85	0,0002*
VEGF и NO	- 0,49	0,125	- 0,9	0,0001*
vWF и NO	- 0,36	0,02*	- 0,78	0,00001*
vWF и Et-1	0,37	0,02*	0,72	0,0003*
NO и Et-1	- 0,91	0,00001*	- 0,74	0,0003*

Примечание: r_1 – взаимосвязь показателей в группе больных ХГ; r_2 – взаимосвязь показателей в группе больных ЦП; p_1 – достоверность отличий в группе пациентов с ХГ; p_2 – достоверность отличий в группе пациентов с ЦП; * - различия достоверны

Корреляционный анализ выявил взаимосвязь маркеров состояния эндотелия и биохимических показателей функциональных печеночных проб при ХДЗП (табл. 6).

Таблица 6

Корреляционный анализ показателей функционального состояния эндотелия и биохимических маркеров в группах больных ХГ и ЦП

Показатели	ХГ		ЦП	
	r_1	p_1	r_2	p_2
ДЭЦ и АЛТ	0,69	0,01*	0,5	0,01*
ДЭЦ и АСТ	0,18	0,3	0,56	0,005*
ДЭЦ и общий билирубин	0,62	0,001*	0,7	0,0001*
ДЭЦ и ЩФ	0,9	0,0003*	0,87	0,00002*
ДЭЦ и ГГТП	0,8	0,2	0,89	0,0005*
ДЭЦ и общий белок	- 0,02	0,9	- 0,8	0,0003*
ДЭЦ и ПТВ	- 0,02	0,89	- 0,6	0,02*
VEGF и АЛТ	0,11	0,77	0,83	0,001*
VEGF и АСТ	0,33	0,16	0,92	0,00002*
VEGF и общий билирубин	0,08	0,8	0,9	0,00001*
VEGF и ГГТП	0,97	0,005*	0,9	0,006*
VEGF и общий белок	- 0,97	0,005*	- 0,9	0,01*
VEGF и ПТВ	- 0,4	0,05	- 0,89	0,01*
vWF и АЛТ	0,1	0,5	0,6	0,001*
vWF и АСТ	0,2	0,2	0,59	0,002*
vWF и общий билирубин	0,05	0,9	0,6	0,005*
vWF и ЩФ	0,61	0,14	0,53	0,03*

vWF и ГГТП	0,97	0,05	0,9	0,0003*
vWF и общий белок	- 0,46	0,35	- 0,77	0,001*
vWF и ПТВ	- 0,08	0,64	- 0,55	0,03*
NO и АЛТ	- 0,6	0,03*	- 0,46	0,01*
NO и АСТ	- 0,18	0,3	- 0,49	0,01*
NO и общий билирубин	- 0,1	0,8	- 0,77	0,0001*
NO и тимоловая проба	- 0,2	0,7	- 0,6	0,02*
NO и общий белок	0,1	0,7	0,76	0,001*
NO и ПТВ	0,26	0,1	0,9	0,03*
Et-1 и АЛТ	0,69	0,01*	0,83	0,00004*
Et-1 и АСТ	0,23	0,1	0,86	0,00001*
Et-1 и общий билирубин	0,005	0,9	0,73	0,001*
Et-1 и связанный билирубин	0,8	0,2	0,66	0,05*
Et-1 и ЩФ	0,42	0,3	0,8	0,0002*
Et-1 и ГГТП	0,42	0,3	0,8	0,02*
Et-1 и тимоловая проба	0,13	0,5	0,54	0,03*
Et-1 и общий белок	- 0,5	0,09	- 0,8	0,001*

Примечание: r1 – взаимосвязь показателей в группе больных ХГ; r2 – взаимосвязь показателей в группе больных ЦП; p1 – достоверность отличий в группе пациентов с ХГ; p2 – достоверность отличий в группе пациентов с ЦП; * – различия достоверны

Таким образом, корреляционный анализ в группе больных ХГ выявил достоверные взаимосвязи показателей повреждения эндотелия с биохимическими маркерами цитолиза и холестаза. При ЦП степень повреждения и ДЭ достоверно определяется выраженностью синдромов цитолиза, холестаза, печеночно-клеточной недостаточности и мезенхимального воспаления, что вполне логично объясняется степенью поражения печени и подтверждает диагностическую значимость синдрома ДЭ при оценке тяжести ХДЗП.

В связи с актуальностью вопроса разработки и внедрения в клиническую практику биохимических маркеров морфологических проявлений вирусного поражения печени, к которым можно отнести маркеры функционального состояния печени, нам представилось целесообразным рассчитать операционные характеристики тестов оценки функционального состояния эндотелия, а именно, диагностическую чувствительность (ДЧ), диагностическую специфичность (ДС) и диагностическую эффективность (ДЭ), для выявления у больных ХДЗП синдрома повреждения и ДЭ и оценки степени выраженности эндотелиальных нарушений при ХГ и ЦП (табл. 7, 8).

Таблица 7

Операционные характеристики тестов определения
функционального состояния эндотелия у больных ХДЗП

Тесты	Точка разделения	ДЧ, %	ДС, %	ДЭ, %
ДЭЦ, 10^4 /л	4,5	93	80	85
VEGF, пг/мл	262,5	100	100	70
vWF, %	85	89	70	78
NO, мкмоль/л	22	95	90	86
Et-1, фмоль/л	0,5	90	90	76

Примечание: ДЧ – диагностическая чувствительность; ДС – диагностическая специфичность; ДЭ – диагностическая эффективность

Таким образом, количество ДЭЦ $\geq 4,5 \cdot 10^4$ /л, уровень NO ≤ 22 мкмоль/л, Et-1 $\geq 0,5$ фмоль/л, функциональная активность vWF $\geq 85\%$ и концентрация VEGF $\geq 262,5$ пг/мл свидетельствуют о наличии ДЭ при ХДЗП с чувствительностью 89-100%, при этом специфичность данных сдвигов колеблется от 70 до 86%, а эффективность в пределах 70-86%. (табл. 7).

Таблица 8

Операционные характеристики тестов определения
функционального состояния эндотелия у больных ХГ и ЦП

Тесты	Точка разделения	ДЧ, %	ДС, %	ДЭ, %
ДЭЦ, 10^4 /л	7,1	80	85	80
VEGF, пг/мл	337,5	80	91	87,5
vWF, %	102	70	73	75
NO, мкмоль/л	17	80	87	70
Et-1, фмоль/л	0,8	72	80	75

Таким образом, имеется возможность дифференциации степени выраженности эндотелиальных нарушений при ХГ и ЦП. Количество ДЭЦ $\leq 7,1 \cdot 10^4$ /л, уровень NO $\geq 17,0$ мкмоль/л, Et-1 $\leq 0,8$ фмоль/л, функциональная активность vWF $\leq 102\%$ и концентрация VEGF $\leq 337,5$ пг/мл характерны для поражения эндотелия при ХГ. Показатели, превышающие эти значения, свидетельствуют о более выраженном поражении эндотелия при ЦП (табл. 8).

В ходе работы нам представилось интересным оценить влияние комбинированной ПБТ у больных ХГС на функциональное состояние эндотелия. На фоне комбинированной ПБТ реафероном в сочетании с рибавирином в основной группе больных ХГС количество ДЭЦ достоверно снизилось на 35,5% ($p=0,002$) от исходного значения, уровень VEGF понизился на 46% ($p=0,1$), функциональная активность vWF достоверно снизилась на 16% ($p=0,042$) от исходного уровня, что свидетельствует об уменьшении степени повреждения эндотелия; уровень NO значимо повысился на 35% ($p=0,01$), а концентрация Et-1 значимо и достоверно снизилась на 63% ($p=0,01$), что свидетельствует об уменьшении степени дисфункции эндотелия. В группе сравнения достоверной коррекции вышеупомянутых показателей функционального состояния эндотелия в процессе лечения не наблюдалось (табл. 9).

Таблица 9

Динамика показателей функционального состояния эндотелия в
сравняемых группах больных ХГС в процессе лечения ($M \pm \sigma$)

Показатели	Основная группа	Группа сравнения	p_{1-2}
	1	2	
ДЭЦ до лечения, $10^4/\text{л}$	$6,2 \pm 1,4$	$5,09 \pm 1,8$	0,6
ДЭЦ в процессе лечения, $10^4/\text{л}$	$4,0 \pm 0,7$	$4,8 \pm 0,7$	0,002*
p	0,002*	0,27	
VEGF до лечения, пг/мл	$215,9 \pm 124,5$	$279,36 \pm 115$	0,48
VEGF в процессе лечения, пг/мл	$115,9 \pm 32,6$	$203,6 \pm 103,6$	0,9
p	0,1	0,6	
vWF до лечения, %	$101,4 \pm 13,7$	$99,7 \pm 12,7$	0,8
vWF в процессе лечения, %	$85,8 \pm 9,9$	$92,5 \pm 7,9$	0,2
p	0,042*	0,32	
NO до лечения, мкмоль/л	$16,7 \pm 4,8$	$17,5 \pm 3,5$	0,6
NO в процессе лечения, мкмоль/л	$25,6 \pm 6,8$	$18,2 \pm 3,4$	0,01*
p	0,01*	0,7	
Et-1 до лечения, фмоль/л	$0,81 \pm 0,33$	$0,72 \pm 0,3$	0,6
Et-1 в процессе лечения, фмоль/л	$0,3 \pm 0,2$	$0,64 \pm 0,2$	0,0001*
p	0,01*	0,16	

p – достоверность отличий на этапах исследования;

* - различия достоверны

Следовательно, комбинированная ПВТ реафероном в сочетании с рибавирином у больных ХГС через 1 месяц от её начала приводит к

уменьшению эндотелиальных нарушений. При оценке позднего вирусологического ответа у 90% пациентов основной группы после ПВТ установлена элиминация HCV.

ВЫВОДЫ

1. У больных хроническими диффузными заболеваниями печени имеются признаки повреждения и дисфункции эндотелия.
2. Методы комплексной оценки функционального состояния эндотелия, обладают высокой диагностической чувствительностью, специфичностью и эффективностью и позволяют дифференцировать степень тяжести эндотелиальных нарушений при хроническом гепатите и циррозе печени.
3. При хронических диффузных заболеваниях печени степень поражения эндотелия не зависит от возраста больных.
4. При циррозе печени степень повреждения и дисфункции эндотелия определяется выраженностью синдромов цитолиза, холестаза, печеночно-клеточной недостаточности и мезенхимального воспаления. При хроническом гепатите степень повреждения эндотелия определяется выраженностью синдромов цитолиза и холестаза.
5. Комбинированная противовирусная терапия реафероном в сочетании с рибавирином у больных хроническим гепатитом С через 1 месяц от её начала приводит к уменьшению эндотелиальных нарушений.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В комплекс методов диагностики у больных ХДЗП следует включать определение маркеров повреждения и дисфункции эндотелия: количество десквамированных эндотелиоцитов, уровень оксида азота, эндотелина-1, концентрацию васкулоэндотелиального фактора роста и определение функциональной активности фактора Виллебранда. Количество ДЭЦ $\geq 4,5 \cdot 10^4$ /л, уровень NO ≤ 22 мкмоль/л, Et-1 $\geq 0,5$ фмоль/л, функциональная активность vWF $\geq 85\%$ и концентрация VEGF

$\geq 262,5$ пг/мл, свидетельствуют о наличии повреждения и дисфункции эндотелия при ХДЗП.

2. Дифференциальную диагностику степени выраженности эндотелиальных нарушений при хроническом гепатите и циррозе печени следует осуществлять с учетом оценки показателей функционального состояния эндотелия. Количество ДЭЦ $\leq 7,1 \cdot 10^4$ /л, уровень NO $\geq 17,0$ мкмоль/л, Et-1 $\leq 0,8$, функциональная активность vWF $\leq 102\%$ и концентрация VEGF $\leq 337,5$ пг/мл характерны для поражения эндотелия при ХГ. Показатели, превышающие эти значения, свидетельствуют о более выраженном поражении эндотелия при ЦП.
3. При проведении противовирусной терапии у больных хроническим гепатитом целесообразно учитывать динамику показателей функционального состояния эндотелия.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Щекотова А.П. Роль вазоактивных цитокинов в патогенезе хронических гепатитов / А.П. Щекотова, Б.В. Головской, И.В. Щекотова, И.А. Булатова // Материалы научной сессии «Терапия и кардиология». – 2006. – Пермь – С. 44-45.
2. Булатова И.А. Дисфункция эндотелия и возможности ее коррекции на фоне противовирусной терапии при хроническом гепатите С / И.А. Булатова, А.П. Щекотова // Материалы Тринадцатой Российской конференции «Гепатология сегодня». – 17-19 марта 2008г. – Москва. – Приложение к Российскому журналу гастроэнтерологии, гепатологии и колонопроктологии. - №1 (том XV111). – С. 70.
3. Булатова И.А. Дисфункция эндотелия и сосудисто-тромбоцитарный гемостаз при хронических заболеваниях печени / И.А. Булатова // Материалы научной сессии молодых ученых «Актуальные вопросы клинической медицины». – 10-11 апреля 2008г. – Пермь. – С. 130-132.
4. Булатова И.А. Оксид азота как маркер дисфункции эндотелия при хронических диффузных заболеваниях печени / И.А. Булатова // Материалы 42-й Всероссийской научной конференции с международным участием студентов и молодых ученых «Актуальные проблемы теоретической, экспериментальной, клинической медицины». – 22-23 апреля 2008г. – Тюмень. – С. 73.

5. Булатова И.А. Роль оксида азота и эндотелина-1 в патогенезе эндотелиальной дисфункции при хронических заболеваниях печени / И.А. Булатова // АВЕТИС-ПРЕСС. Есть мнение... Научно-медицинский альманах «АВЕТИС-ПРЕСС. Есть мнение...». – 2008. - №1 (1). – С. 9-11.
6. Булатова И.А. Эндотелиальная дисфункция и сосудисто-тромбоцитарный гемостаз при хронических заболеваниях печени / И.А. Булатова // Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2008. – Том 6.- Выпуск № 3. – Часть 2. – С. 17-20.
7. Третьякова Ю.И. Влияние периоперационного стресса на состояние эндотелия сосудов и фагоцитарную активность нейтрофилов у больных хроническим калькулезным холециститом с психовегетативным синдромом / Ю.И. Третьякова, И.В. Соловьева, И.А. Булатова // Пермский мед. журнал – 2008. – Том XXV. - №1. – С. 112-118.
8. Булатова И.А. Роль дисфункции эндотелия в патогенезе хронического гепатита С / И.А. Булатова, А.П. Щекотова, Р.Б. Гальбрайт, Н.Л. Макарова // Мир вирусных гепатитов. – 2008. – С. 2-5.
9. Щекотов В.В. Влияние периоперационного стресса на эндотелий сосудов и фагоцитарную активность нейтрофилов у больных хроническим калькулезным холециститом / В.В. Щекотов, И.Я. Циммерман, Ю.И. Третьякова, И.В. Соловьева, А.П. Щекотова, И.А. Булатова // Медицина критических состояний. – 2008. - № 1. – С. 38-43.
10. Булатова И.А. Дисфункция эндотелия при хронических диффузных заболеваниях печени / И.А. Булатова, А.П. Щекотова, Ю.И. Третьякова // Казанский медицинский журнал. – 2009. – Том XC. - № 1. – С. 46-48.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЛТ – аланинаминотрансфераза
 АСТ – аспартатаминотрансфераза
 ГГТП – гамма-глутамилтранспептидаза
 ДС – диагностическая специфичность
 ДЧ – диагностическая чувствительность
 ДЭ – дисфункция эндотелия
 ДЭЦ – десквамированные эндотелиоциты
 ПТВ – протромбиновое время
 ХГ – хронический гепатит
 ХГС – хронический гепатит С
 ХДЗП – хронические диффузные заболевания печени
 ЦП – цирроз печени
 ЩФ – щелочная фосфатаза
 Et-1 – эндотелин-1
 HCV – вирус гепатита С
 NO – оксид азота
 VEGF – васкулоэндотелиальный фактор роста
 vWF – фактор Виллебранда **ХГ**